

**В.Г. Вакульчик, А.И. Гринь,  
А. В. Наумов, Е.М. Дорошенко.**  
УО «Гродненский государственный  
медицинский университет»,  
УЗ «Гродненская областная детская  
клиническая больница»,  
г.Гродно

## **Содержание метаболитов триптофана и серотонина в моче: возможность использования в диагностике острого аппендицита у детей**

*Обследовано 25 детей в возрасте от 3 до 15 лет, поступивших в клинику детской хирургии с болями в животе. Выделены две группы больных: I – диагноз острого аппендицита исключен на основании клинических данных, диагностической лапароскопии или выполненной негативной аппендэктомии; II – оперированные с гистологически подтвержденным деструктивным аппендицитом. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определялось содержание в моче тирозина, триптофана, серотонина, 5-ОИУК, гомованилиновой кислоты.*

*Обнаружено достоверное снижение концентрации 5-ОИУК в моче у больных с деструктивным аппендицитом. Не получено достоверной разницы в содержании тирозина, триптофана, серотонина, гомованилиновой кислоты. При точке разделения концентрации 5-ОИУК 800 нмоль/л, чувствительность метода составит 75% (ДИ 58 – 92%), специфичность – 82% (ДИ 67 – 97%), точность – 80% (ДИ 64 – 96%).*

*Определение содержания 5-ОИУК в моче может быть полезным в диагностике острого аппендицита у детей.*

*Ключевые слова: острый аппендицит, дети, диагностика, 5-оксииндолуксусная кислота, чувствительность, специфичность.*

История диагностики и лечения острого аппендицита насчитывает не одно десятилетие. За этот период накоплен немалый опыт лечения острого аппендицита и его осложнений и в детском возрасте. Однако даже на современном уровне развития медицины и детской хирургии, в частности, результаты лечения острого аппендицита у детей не имеют существенной тенденции к улучшению. Остается нерешенным ряд актуальных проблем. Во-первых, все функции червеобразного отростка, патофизиологические процессы, протекающие в нем при воспалении нам полностью неизвестны. Во-вторых, значительным остается процент запущенных форм аппендикулярного перитонита, в лечении которых отмечают наибольшие сложности. В-третьих, во всех странах мира сохраняется дос-

точно большое число неоправданных аппендэктомий, когда при гистологическом исследовании удаленного червеобразного отростка в нем не выявляют деструктивных изменений. По литературным данным оно достигает 20 - 30% [2]. Доказано, что червеобразный отросток не является рудиментарным органом в организме человека, а выполняет несколько важных функций: рецептивную, антителообразования в ответ на проникновение антигена, контроля полноты ферментативного расщепления пищи и др. Известно, что активность аппендикса наиболее высока в детском возрасте. Удаление неизмененного аппендикса не является безвредным для организма оперативным вмешательством. Неоправданно выполненное удаление червеобразного отростка зачастую приводит к таким послеоперационным осложнениям, как воспалительные инфекционные изменения области операционной раны, перитонит, спаечная кишечная непроходимость, которые усугубляют состояние больных, требуют повторных оперативных вмешательств, а значит, и дополнительных экономических затрат. Доказана прямая связь между выполнением «негативной» аппендэктомии и риском развития онкологических заболеваний у взрослых в отдаленном периоде (неходжкинская лимфома и др.).

В настоящее время не существует «золотого стандарта» предоперационной диагностики острого аппендицита у детей. Основу её как у детей, так и у взрослых, составляет клинико-лабораторное обследование больных. Трудно согласиться с мнением о принятии за «золотой стандарт» инвазивного метода – лапароскопии. Отсутствие специфичных лабораторных и инструментальных методов исследования подталкивает ученых всего мира к постоянному поиску новых, более совершенных клинико-лабораторных способов диагностики острого аппендицита.

В 1981 году в собственной пластинке червеобразного отростка обнаружено ганглионарное нервное сплетение, содержащее многочисленные энтерохромаф-

финные клетки, в которых активно протекают процессы метаболизма триптофана и серотонина (рисунок 1) с образованием основного конечного продукта обмена – 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) [6, 7].

Патологические деструктивные процессы в червеобразном отростке могут привести к нарушению метаболизма триптофана, а значит и к изменению концентрации его конечных метаболитов в биологических жидкостях (кровь, моча).

Изучением метаболизма триптофана и серотонина при остром аппендиците у взрослых занимаются лишь в нескольких медицинских центрах мира (США, Англия, Швеция, Дания, Иран). В доступной нам литературе авторы представляют отличающиеся друг от друга результаты своих исследований. Наибольшее значение придается определению концентрации в моче такого продукта метаболизма, как 5-оксииндолуксусная кислота.

Большинство исследователей сообщают о высокой диагностической специфичности, точности и чувствительности изменения концентрации этого метаболита при остром аппенди-

ците (чувствительность – 84 - 93,8%, специфичность – 88 - 95,7%; точность – 93 - 100%) по сравнению с другими общепринятыми лабораторными исследованиями [2, 5, 8, 9]. Некоторые исследователи отрицают возможность использования данного теста для диагностики острого аппендицита [4, 10]. В странах СНГ данная проблема не изучалась. Оценка диагностической значимости продуктов обмена триптофана и серотонина в диагностике острого аппендицита у детей не проводилась.

Изучение метаболизма триптофана и серотонина, определение его конечных продуктов в моче в совокупности с клиническими данными могут быть полезны для подтверждения или исключения воспалительного процесса в червеобразном отростке на ранних этапах. Это позволит уменьшить количество неоправданных

аппендэктомий, тяжелых послеоперационных осложнений, число дней пребывания в стационаре и экономические затраты на лечение больных.

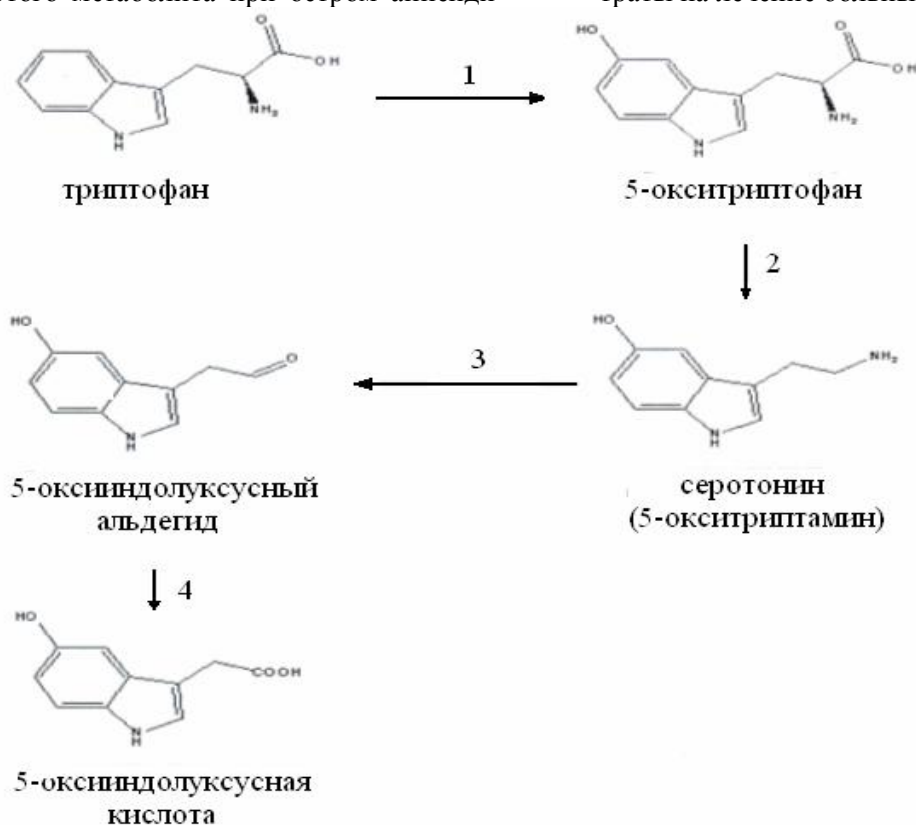


Рис.

### Цель исследования

Определить концентрацию метаболитов триптофана и серотонина в моче у детей с болями в животе и их значимость в диагностике острого аппендицита.

Материал и методы. Проспективное поперечное рандомизированное моноцентровое клиническое исследование. Работа выполнена в клинике детской хирургии и лаборатории ана-

литической биохимии Гродненского государственного медицинского университета в соответствии с рекомендациями инициативной группы STARD (2003). Клиническая база - хирургические отделения Гродненской областной детской клинической больницы.

Обследовано 25 детей в возрасте от 3 до 15 лет (медиана 10,5), обратившихся с

жалобами на боли в животе и госпитализированных в хирургическое отделение с подозрением на наличие у них острого аппендицита (15 мальчиков и 10 девочек). При поступлении в приемном отделении производили общее клиническое и стандартное лабораторное обследование (общий анализ крови, общий анализ мочи) больных. Для дополнительного специального исследования забиралось 0,5 мл мочи.

Определение уровней биогенных аминов, их предшественников и метаболитов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии проб мочи после обработки 1 М  $\text{HClO}_4$  (1:10 по объему) с детектированием по природной флуоресценции на хроматографической системе Agilent 1100. Управление прибором и сбор данных осуществляли с помощью системы Agilent Chem Station 08.03.

Колонка 3x250 мм Separon SGX  $\text{C}_{18}$ , 8 мкм (Элсико, Россия) термостатировалась при 27°C. Подвижная фаза: 0,1 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,017 М  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , pH 3,65; 180 мг/л гептилсульфоната натрия, 180 мг/л октилсульфоната натрия, 50 мг/л ЭДТА, 10% (об.) метанола. Скорость потока 0,5 мл/мин. Детектирование: длина волны возбуждения 280 нм, излучения – 320 нм для тирозина и его производных и 340 нм для триптофана и его производных, а также ванилиновой кислоты, которую использовали в качестве внутреннего стандарта. Метод представляет собой модификацию ранее использованного [1].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием методов непараметрической статистики: рассчитывались

медиана (Me); 25 процентиль (25%) и 75 процентиль (75%). Достоверность различий определялась по критерию Манна-Уитни (двусторонний критерий). Доверительный интервал (ДИ) был принят 95%. Корреляционные взаимосвязи исследовались по методу Spearman. Диагностическая значимость метода оценивалась согласно критериям доказательной медицины (чувствительность, специфичность, точность и т.д.).

1. Основной путь метаболизма триптофана и серотонина Клиническая характеристика обследованных больных. Выделены две группы пациентов. Первую (I) группу составили 17 детей в возрасте от 3,3 до 14 лет (медиана – 11,0), у которых диагноз «острый аппендицит» был исключен в результате клинического наблюдения (15), диагностической лапароскопии (1). Негативная аппендэктомия была выполнена у 1 ребенка.

Во вторую (II) группу включено 8 детей в возрасте от 4,5 до 15 лет (медиана – 12,0), которым выполнена аппендэктомия и при гистологическом исследовании червеобразного отростка диагноз деструктивного аппендицита был подтвержден.

Все обращения за медицинской помощью были первичными.

В таблице 1 представлена клиническая характеристика обследованных больных.

Таблица 1 Клиническая характеристика обследованных больных

| Показатель                       |                    | Группа I<br>N=17      | Группа II<br>N=8      | P      |
|----------------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|--------|
| Возраст, лет<br>Me (25% - 75%)   |                    | 11,0<br>(7,0 – 13,0)  | 12,0<br>(10,0 – 15,0) | 0,26   |
| Пол                              | Мальчики           | 11 (65%; ДИ 42 – 88%) | 4 (50%; ДИ 1 - 99%)   | > 0.05 |
|                                  | Девочки            | 6 (35%; ДИ 12 – 58%)  | 4 (50%; ДИ - 99%)     | > 0.05 |
| Срок от начала заболевания, часы | До 6               | 5 (29%; ДИ 7 – 50%)   | 1 (12%; ДИ 0 - 76%)   | > 0.05 |
|                                  | 7 - 12             | 4 (23%; ДИ 3 – 43%)   | 2 (25%; ДИ 0 - 67%)   | > 0.05 |
|                                  | 13 - 24            | 4 (23%; ДИ 3 – 43%)   | 2 (25%; ДИ 0 - 85%)   | > 0.05 |
|                                  | Свыше 24           | 7 (41%; ДИ 17 – 64%)  | 3 (38%; ДИ 0 - 93%)   | > 0.05 |
| Тошнота                          | Нет                | 9 (53%; ДИ 29 – 77%)  | 1 (12%; ДИ 0 – 76%)   | > 0.05 |
|                                  | Да                 | 8 (47%; ДИ 12 - 82%)  | 7 (88%; ДИ 64 – 100%) | > 0.05 |
| Рвота                            | Нет                | 12 (70%; ДИ 44 – 97%) | 2 (25%; ДИ 0 – 85%)   | > 0.05 |
|                                  | Однократная        | 2 (12%; ДИ 0 - 57%)   | 3 (37%; ДИ 0 – 92%)   | > 0.05 |
|                                  | Множественная      | 3 (18%; ДИ 0 – 61%)   | 3 (37%; 0 – 92%)      | > 0.05 |
| Температура °C                   | До 37,0            | 10 (59%; ДИ 28 – 89%) | 0                     | < 0.01 |
|                                  | 37,1 – 38,0        | 5 (29%; ДИ 0 - 69%)   | 7 (88%; ДИ 64 – 100%) | < 0.01 |
|                                  | Выше 38,0          | 2 (12%; ДИ 0 – 57%)   | 1 (12%; ДИ 0 – 76%)   | > 0.05 |
| Анорексия                        | Нет                | 6 (35%; ДИ 0 – 73%)   | 2 (25%; ДИ 0 – 85%)   | > 0.05 |
|                                  | Не установлено     | 7 (41%; ДИ 4 – 77%)   | 4 (50%; ДИ 1 – 99%)   | > 0.05 |
|                                  | Да                 | 4 (24%; ДИ 0 – 66%)   | 2 (25%; ДИ 0 – 85%)   | > 0.05 |
| Характер стула                   | Задержка более 24ч | 7 (41%; ДИ 4 – 77%)   | 2 (25%; ДИ 0 – 85%)   | > 0.05 |
|                                  | Обычный            | 10 (59%; ДИ 20 – 89%) | 5 (62%; ДИ 19 – 100%) | > 0.05 |
|                                  | Жидкий             | 0                     | 1 (13%; ДИ 0 – 79%)   | > 0.05 |

Представленные в таблице 1 данные свидетельствуют, что обе группы были соотносимы по возрасту, полу, длительности заболевания и т.д. В то же время у большинства больных I группы температурная реакция

была менее выражена. Изменения со стороны общего анализа крови, выполненного при поступлении, отражены в таблице 2 (приведены основные показатели).

Таблица 2. Показатели общего анализа крови пациентов при поступлении в стационар

|   | <b>Группа I<br/>Me<br/>25% - 75%</b> | <b>Группа II<br/>Me<br/>25% - 75%</b> | <b>P</b> |
|---|--------------------------------------|---------------------------------------|----------|
| Число лейкоцитов<br>* 10 <sup>12</sup> /л | 9,2<br>7,5 – 9,8                     | 14,85<br>12,85 – 18,8                 | 0,000642 |
| СОЭ мм/час                                | 6<br>5 - 10                          | 9,5<br>6,5 – 35,5                     | 0,12     |
| Эозинофильные                             | 2<br>0 – 4                           | 0                                     | 0,049    |
| Палочкоядерные                            | 1<br>1 – 5                           | 2,5<br>2 – 3                          | 0,47     |
| Сегментоядерные                           | 61<br>49 – 71                        | 79<br>72,5 – 83                       | 0,000642 |
| Лимфоциты                                 | 26<br>20 – 40                        | 11,5<br>10 – 16                       | 0,005984 |
| Моноциты                                  | 6<br>4 - 7                           | 7<br>3,5 - 8                          | 0,71     |

Как видно из приведенных в таблице 2 данных, у больных II группы отмечен более выраженный лейкоцитоз. Также зарегистрированы сдвиг лейкоцитарной формулы, снижение числа лимфоцитов.

Время наблюдения в стационаре от момента поступления до начала операции составляло от 2 до 16 часов и определялось длительностью заболевания, выраженностью клинических проявлений, степенью тяжести

состояния больного и необходимостью предоперационной подготовки.

### Результаты и обсуждение

Данные о концентрации изученных веществ в моче представлены в таблице 3.

Как видно из данных, представленных в таблице 3, не имеется достоверной разницы в содержании тирозина, триптофана, серотонина, гомованилиновой кислоты в моче у больных обеих групп ( $P > 0,05$ ).

Таблица 3. Содержание метаболитов триптофана и серотонина в моче обследованных пациентов, нмоль/л

| <b>Показатель</b> | <b>Группа I<br/>Me<br/>25% - 75%</b> | <b>Группа II<br/>Me<br/>25% - 75%</b> | <b>P</b>           |
|-------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--------------------|
| ТИРОЗИН           | 5305,112<br>4432,270 – 7590,18       | 5396,972<br>4071,972 – 6455,929       | 0,600076           |
| ТРИПТОФА<br>Н     | 6734,196<br>5599,834 – 10545,20      | 6159,607<br>5403,962 – 8439,898       | 0,448865           |
| 5-ОИУК            | 946,151<br>828,172 – 1016,20         | 456,438<br>169,425 – 799,904          | 0,014422<br>< 0.05 |
| ОИУК/ТИР          | 0,156<br>0,134 – 0,23                | 0,073<br>0,047 – 0,152                | 0,041465           |
| ОИУК/ТРИ          | 0,140<br>0,094 – 0,17                | 0,052<br>0,030 – 0,125                | 0,070942           |
| СЕРОТОНИН         | 44,743<br>32,783 – 71,24             | 48,667<br>27,329 – 93,111             | 0,907249           |
| ГВК               | 2003,539<br>1332,134 – 2126,24       | 1483,542<br>1232,748 – 2080,296       | 0,351301           |

Было обнаружено статистически достоверное снижение уровня концентрации только 5-оксииндолуксусной кислоты в моче у

больных с деструктивным (флегмонозным/гангренозным) аппендицитом. У больных II группы он составлял 456,438 (169,425

– 799,904) нмоль/л против 946,151 (828,172 – 1016,20) нмоль/л у пациентов группы I ( $P = 0,014$ ). Чем более выраженными были деструктивные изменения в аппендиксе, тем ниже была концентрация 5-оксииндолуксусной кислоты в моче. На рисунке 2 представлена ROC-кривая теста «5-оксииндолуксусная кислота». Шаг точек разделения составил 200 нмоль/л. Если принять за точку разделения концентрацию 5-оксииндолуксусной кислоты, равную 800 нмоль/л, чувствительность метода составит 75% (ДИ 58 – 92%), специфичность – 82% (ДИ 67 – 97%), точность – 80% (ДИ 64 – 96%).

При изучении корреляционных взаимоотношений было выявлено, что у больных, оперированных по поводу деструктивного аппендицита, с увеличением длительности заболевания отмечалось снижение концентрации триптофана ( $R = -0,86$ ;  $P = 0,005$ ) и

повышение уровня 5-гидрокситриптофана ( $R = 0,80$ ;  $P = 0,016$ ). В первой группе такой зависимости выявлено не было. Среди детей, у которых острый аппендицит был исключен, максимальный уровень концентрации 5-оксииндолуксусной кислоты отмечался в ночные и ранние утренние часы, постепенно снижаясь к вечеру ( $R = -0,56$ ;  $P = 0,01$ ). У больных II группы подобной корреляции выявлено не было. Не найдено зависимости концентрации определяемых веществ от пола, возраста, наличия гипертермии, рвоты, изменения характера стула ни в одной группе.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что определение концентрации 5-оксииндолуксусной кислоты в моче может использоваться для более точной и ранней диагностики острого аппендицита у детей.

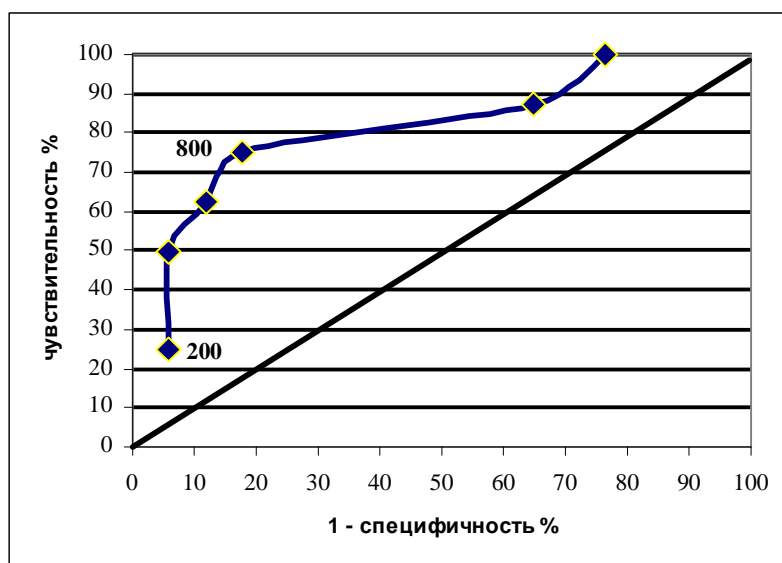


Рисунок 2. ROC-кривая теста «5-оксииндолуксусная кислота» (200, ...800 – точки разделения, нмоль/л)

### Выводы.

1. Концентрация 5-оксииндолуксусной кислоты в моче у детей с деструктивными формами острого аппендицита достоверно ниже, чем у детей с болями в животе другого генеза.
2. Концентрация тирозина, триптофана, серотонина и гомованилиновой кислоты существенно не отличается у детей обеих групп.
3. Чувствительность теста составляет 75%; специфичность – 82%; точность – 80%, что позволяет рекомендовать его к использованию в клинической практике.

### Литература

1. Дорошенко Е.М. Эффекты совместного введения триптофана, аминокислот с развет-

ленной углеводородной цепью и таурина на фонде нейроактивных соединений в отделах головного мозга крыс при синдроме отмены этанола / Е.М. Дорошенко, Ю.Е. Разводовский // Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза: материалы междунар. науч. конф., Гродно, 28 - 29 сент. 2000 г.: в 2 ч. / Гродненский гос. у-т; редкол.: Л.И. Нефёдов [и др.]. – Гродно, 2000. – Ч.1 – С. 155 - 160.

2. Острый аппендицит у детей / Я.Б.Юдин [и др.]; Москва: Медицина, 1998. – 256с.
3. Acute appendicitis and plasma concentration of serotonin // P. Rherdam [et all] // Acta Chir Scand. – 1987. – V. 153. - № 7 – 8. – P. 437 – 439.
4. Concentrations of serotonin in plasma - a test for appendicitis? // SM. Singh [et all] // Clin Chem. – 1988. – V. 34. - № 12. – P. 2572 - 2574.

5. Evaluation of plasma serotonin concentration in acute appendicitis / U. Kalra [et al] // *Indian J Gastroenterol.* – 1997. – V. 16. – № 1. P. 18 - 19.
6. Ratzenhofer M. The amphicrine (endo-exocrine) cells in the human gut, with a short reference to amphicrine neoplasias / M. Ratzenhofer // *Acta Morphol Acad Sci Hung.* – 1980. – V. 28. – № 1 – 2. P. 37-58.
7. Serotonin - immunoreactive cells in the lamina propria plexus of the appendix / J. Rode [et al] // *Hum Pathol.* – 1983. – V. 14. – № 5. – P: 464 - 469.
8. Serotonin and its possible role in the painful non-inflamed appendix / AP. Dhillon, J. Rode J. // *Diagn Histopathol.* – 1983. – V. 6. – № 3 – 4. – P. 239 - 246.
9. The value of 5-hydroxy indole acetic acid measurement in spot urine in diagnosis of acute appendicitis / Ml. Oruc [et al] // *East Afr Med J.* – 2004. – V. 81. – № 1. – P. 40 - 41.
10. Urinary 5-hydroxy indole acetic acid as a test for early diagnosis of acute appendicitis / S. Bolandparvaz [et al] // *Clin Biochem.* – 2004. – V. 37. – № 11. – P. 985 - 989.

**А.Р. Плоцкий, Т.Ю. Егорова,  
Л.Н. Сидорова**

УО «Гродненский государственный  
медицинский университет»

г.Гродно

## **Оценка уровня гомоцистеина в плазме беременных женщин с врожденными пороками развития плода**

*Гомоцистеин - серосодержащая аминокислота, участвующая в синтезе цистеина, трансметилировании ДНК, белков и липидов, в биосинтезе нейротрансмиттеров. Нормальный уровень гомоцистеина в плазме составляет 5 - 15 мкмоль/л. Повышение уровня гомоцистеина может приводить к осложнениям беременности и возникновению пороков развития плода.*

*Уровень гомоцистеина определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. У беременных группы сравнения выявлена умеренная гипергомоцистеинемия, что может быть результатом неадекватной прегонцептивной подготовки. Беременные женщины, у плодов которых выявлены врожденные аномалии, имели достоверно более высокий уровень гомоцистеина.*

**Ключевые слова:** гомоцистеин, пороки развития.

летального исхода требуется проведение хирургического лечения, реабилитационных мероприятий и, соответственно, серьезных затрат в социальной сфере. Поэтому не вызывает сомнения необходимость своевременной и качественной диагностики пороков развития плода.

В настоящее время ведущим методом пренатальной диагностики врожденных пороков развития у плода является ультразвуковое исследование. С помощью данного метода можно диагностировать до 70 - 80% врожденных пороков развития [3]. Несмотря на все достоинства ультразвуковой диагностики, ее возможности ограничены. Трудности в своевременной диагностике врожденных аномалий создают маловодие, выраженная угроза прерывания беременности, "неудобное" для исследователя положение плода, избыточная масса тела у пациентки, поздняя манифестация врожденных аномалий (особенно пороков сердца и скелетных дисплазий). Значительную роль играют качество ультразвуковой аппаратуры и опыт исследователя [7]. Инвазивные процедуры (амниоцентез, биопсия ворсин хориона) являются достаточно эффективными и позволяют проводить диагностику хромосомных болезней. Однако на долю хромосомных аномалий приходится 0,5 - 0,7% всей врожденной патологии [4], поэтому с экономической точки зрения инвазивные процедуры целесообразно проводить только при наличии четких критериев, устанавливаемых с помощью скрининга. Биохимические методы диагностики практически не распространены в повседнев-

### **Введение**

Среди причин перинатальной смертности в Республике Беларусь врожденные пороки развития плода устойчиво занимают ведущие позиции, пропуская вперед лишь внутриутробные инфекции и состояния, характерные для перинатального периода [6]. Встречаемость врожденных аномалий плода не имеет тенденции к снижению. Подобная ситуация характерна не только для Беларуси, но и для России [5]. Врожденные пороки развития являются одной из причин детской инвалидности, уступая только неврологическим и психическим заболеваниям [1]. При отсутствии